

Biotechnologies végétales au Vietnam : le Laboratoire associé francophone de Conhue (Hanoi)

Le Thi Anh Hong, Jean Semal

Le Fonds francophone de la recherche (FFR) constitué dans le cadre de l'Université des réseaux d'expression française (UREF) a été créé en 1995 avec les objectifs suivants :

- créer au Sud les conditions de relance d'une recherche durable dans le cadre d'une véritable pratique multilatérale ;
- consolider les structures de recherche existantes et favoriser l'émergence de nouvelles équipes au Sud ;
- développer la dimension francophone de la recherche ;
- favoriser le développement de structures de formation des jeunes chercheurs à l'échelon régional ;
- favoriser la mobilité des chercheurs dans l'espace francophone.

Parmi les divers programmes que comporte le FFR, celui relatif aux Laboratoires associés francophones (LAF) est l'un des plus richement doté, avec les objectifs suivants :
– permettre aux meilleurs laboratoires et centres de recherche des pays du Sud de renforcer leur potentiel, d'améliorer leurs conditions de travail et de mieux valoriser les résultats de leur recherche ;
– mettre en œuvre des actions de recherche de niveau scientifique international ;
– publier en français dans des revues ou

des ouvrages de qualité scientifique reconnue sur le plan international ;

- développer une activité scientifique en français par l'organisation d'enseignements, de séminaires, de stages et, éventuellement, de la préparation du doctorat dans le cadre des Écoles doctorales régionales.

Après appel à candidatures, quatorze laboratoires ont été retenus pour la catégorie « Sciences du vivant », dont le Laboratoire de pathologie végétale appartenant à l'Institut de génétique agronomique (IGA) de Conhue-Tuliem, Hanoi (LAF 312). Ce laboratoire travaille sur diverses plantes cultivées, principalement les légumineuses, les agrumes et les plantes horticoles ; sa mission porte notamment sur l'identification des causes de maladies et la définition des méthodes de lutte : six chercheurs, quatre ingénieurs, trois techniciens et un étudiant œuvrent au sein du laboratoire, constituant une masse critique indispensable pour pouvoir faire face à la diversité des sujets et des techniques.

Activités de recherche

Les légumineuses

Les recherches, qui portent principalement sur les pois protéagineux et le soja, sont réalisées en collaboration avec le Dr Yves Maury de la Station de pathologie végétale de l'INRA, à Versailles (France). Elles doivent s'étendre à l'ensemble des productions de légumineuses. Chez le pois, on a comparé différentes techniques de détection d'un virus de mosaïque transmis par la graine (*pea seed borne mosaic virus*).

Les résultats obtenus en 1996 indiquent que, dans les conditions du Vietnam, le test enzymatique ELISA est le plus fiable, tout en étant le moins onéreux et le plus aisé à mettre en œuvre. La technique de polymérisation en

chaîne (PCR) et l'immuno-capture-PCR nécessitent des opérations délicates, difficiles à mettre en œuvre pour tester de nombreux échantillons. La recherche aboutit donc ici à privilégier une technique robuste, aux performances bien connues et utilisable avec des infrastructures rentables sur le plan budgétaire.

Les agrumes

Les méthodes de multiplication classiques des agrumes sont susceptibles de propager nombre d'agents de maladies. Une première étape pour prévenir ce processus consiste en la sélection de porte-greffe et de cultivars sains ou assainis.

Comme porte-greffes résistants au virus de la tristesse, on a retenu les espèces *Poncirus trifoliata*, *Citrus sinensis* et *Citrus citrumelo*. Les porte-greffes retenus comme résistants aux *Phytophthora* sp. et aux nématodes sont, outre *P. trifoliata*, les espèces *Citrus grandis* et *Citrus aurantifolia*. La résistance aux acariens phytophages existe chez le mandarinier Satsuma et le pomelo March. La résistance ou la tolérance à la maladie du verdissement (*greening*), causée par un procaryote du phloème, est connue chez *Citrus grandis* et certains mandariniers tropicaux. Des plantes indicatrices sont par ailleurs multipliées en vue de servir dans les indexages. La technique du microgreffage de méristèmes *in vitro* permet de régénérer des plantes saines, libérées de l'agent du *greening*. Des essais en la matière ont débuté au laboratoire de Conhue en septembre 1996 et un premier bilan est attendu pour la fin de 1997.

Les orchidées

L'exploitation commerciale des orchidées appartenant aux genres *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Paphiopeduncum*, *Miltonia*, *Phalaenopsis* et *Cattleya* a connu un grand

Le Thi Anh Hong : Laboratoire de pathologie végétale. Institut de génétique agronomique, Conhue, Tuliem, Hanoi, Vietnam.

Jean Semal : Unité de phytopathologie, Faculté des sciences agronomiques, 2, passage des déportés, B-5030 Gembloux, Belgique.

Tirés à part : Le Thi Anh Hong

Cahiers Agricultures 1997 ; 6 : 523-6
Agriculture et développement 1997 ; 15 : 205-8

essor au Vietnam, notamment grâce à la culture de tissus. Les virus des anneaux nécrotiques de *Odontoglossum* et le virus de la mosaïque du *Cymbidium* sont répandus et provoquent de graves dégâts. Ici également, la méthode ELISA, testée en 1996, représente la technique de base pour le diagnostic de ces deux virus. Sa sensibilité et sa rapidité d'exécution sont ici amplifiées par couplage avec le test biotine-avidine qui permet par ailleurs de réduire considérablement la taille des échantillons à analyser, ce qui le rend particulièrement approprié pour la culture de tissus *in vitro*.

Plantes diverses

Outre les trois groupes de plantes précités, des recherches seront également menées sur la tomate, le poivron, le bananier et le papayer [1]. Le programme de recherche mis en œuvre en 1997 prévoit un affinement des différentes techniques de diagnostic en vue de leur utilisation, tant au laboratoire que, en routine, pour la production à grande échelle de produits commerciaux de qualité. On amplifiera également les travaux d'assainissement et de diffusion de matériel sain, on caractérisera les souches locales de différents agents pathogènes, on procédera à une évaluation des coûts et des rapports qualité-prix et on développera la technique de microgreffage.

Activités de formation et stages

S'agissant d'un laboratoire en phase d'expansion et de modernisation, il convenait que les activités de formation et de stage connaissent une dynamique particulière. En 1996, le laboratoire a pu compter à cet effet sur la visite d'experts de France appartenant à l'INRA de Versailles (Dr Monique Lemattre et Dr Josette Albouy) et de l'École nationale supérieure horticole d'Angers (professeur Pierre Lemattre). En 1997, trois autres experts français séjourneront au laboratoire. En septembre, le Dr Tepfer de l'INRA de Versailles traitera des manipulations du génome des plantes pour améliorer leurs caractéristiques, tandis que l'ingénieur Manceau de l'INRA d'Angers œuvrera sur les maladies bactériennes des plantes horticoles. En novembre, le Dr Samson, de l'INRA d'Angers traitera des maladies bactériennes transmises par la semence chez les légumineuses.

Par ailleurs, de nombreuses missions à l'étranger ont été réalisées ou sont prévues pour les membres du laboratoire. Le Dr Le Thi Anh

Encadré 1

Programme du séminaire franco-vietnamien sur les viroses et bactérioses en rapport avec le marché international de l'horticulture ornementale

Institut de génétique agricole (IGA)
Hanoi, le 6 mars 1996

9 h 15 – Accueil des participants par le Dr Le Thi Anh Hong, organisatrice du séminaire, directrice du Service de pathologie végétale (LAF 312) de l'IGA de Hanoi
– Allocution du Dr Tran Duy Quy, directeur de l'IGA de Hanoi.

– Allocution du Dr Monique Lemattre, présidente du séminaire, INRA, Versailles.
– Allocution du Dr Nguyen Ngoc Kinh, directeur du Département des sciences et technologies de la qualité du ministère de l'Agriculture et du Développement rural du Vietnam.

10 h 15 - Problèmes posés par les maladies bactériennes des plantes, orientation des recherches (Dr Monique Lemattre, Pathologie végétale, INRA, Versailles).

11 h 30 - Les maladies à virus. Importance dans les cultures ornementales (Dr Josette Albouy, Pathologie végétale, INRA, Versailles).

14 h 30 - Situation actuelle et orientation des recherches sur les viroses et les bactérioses nuisibles aux plantes au Vietnam (Ha Minh Trung, Institut de protection des plantes, Hanoi).

14 h 50 - Les bactérioses au Nord Vietnam (Le Luong Te, Université d'agriculture de Hanoi).

15 h 10 - Diagnostic de la Tuberculose par PCR appliqué au Vietnam : pourquoi et comment ? (Le Thi Kim Tuyen, Institut national d'hygiène et d'épidémiologie, Hanoi).

15 h 30 - Études des virus du delta du fleuve Rouge (Vu Trieu Man, Pathologie végétale, Université d'agriculture de Hanoi).

15 h 50 - Test ELISA de détection des anticorps IgG spécifiques du virus de la rougeole (Nguyen Han Phuc, Institut national d'hygiène et d'épidémiologie, Hanoi).

16 h 30 - Le marché international de l'horticulture et ses exigences (Pierre Lemattre, chaire d'Horticulture ornementale, ENSH, Angers).

17 h 30 - La culture des fleurs et des plantes ornementales au Nord Vietnam, quelques propositions (Nguyen Quang Thach, Université d'agriculture de Hanoi)

17 h 50 - Détection par ELISA des virus du dahlia (Le Thi Anh Hong, IGA, Pathologie végétale LAF 312, Hanoi).

18 h 15 - Discussion et clôture du colloque.

Programme of the France-Vietnam seminar on virus and bacterial diseases versus international market of ornamental horticulture

Hong, directrice du laboratoire de Pathologie végétale, a effectué divers séjours en France. En continuation d'une visite faite en 1995 à la Station d'agrumiculture de l'INRA de Corse, elle s'est rendue à la Station de l'INRA de Bordeaux (professeur Bové) afin d'établir les bases d'une collaboration en matière de *greening* des agrumes. Un séjour à l'Université de Paris-Sud lui a permis par ailleurs de traiter des techniques de culture *in vitro* dans la bioconservation d'espèces végé-

tales du Vietnam. En 1997, elle a également effectué un séjour de trois mois au laboratoire de Pathologie végétale de la Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux (Belgique). D'autres membres du laboratoire ont également fait des séjours à l'Institut de biotechnologies des plantes de l'Université de Paris-Sud à Orsay (France), ainsi qu'à la Station de pathologie végétale de Versailles et à l'École nationale d'horticulture d'Angers (France).

Activités de communications et de diffusion

Faire connaître *in situ* un laboratoire, ses thèmes de recherches et ses personnels est indispensable à sa visibilité et est souvent un prérequis à l'établissement de collaborations fructueuses avec l'extérieur.

Un séminaire franco-vietnamien intitulé « Les viroses et bactérioses des plantes ornementales et le marché international de l'horticulture ornementale » a été organisé à Hanoi le 6 mars 1996 (encadré 1), sous l'égide de l'AUFELF-UREF et de l'Institut de génétique agricole. Une note d'information de l'ambassade de France (encadré 2) a rendu compte de cet événement, répercuté également dans la presse locale. Ce séminaire, qui associe la recherche agronomique et médicale (Institut national d'épidémiologie) ainsi que la recherche en horticulture ornementale, souligne le souci d'efficacité des partenaires pour soutenir une production de qualité.

L'allocution du Dr Tran Duy Quy, directeur de l'IGA a rappelé l'aide de l'AUFELF-UREF dans les différents domaines (culturels, sociaux et scientifiques). Il place la coopération en pathologie végétale entre l'IGA et l'INRA, dans le cadre de la préparation du Sommet de la francophonie qui aura lieu à Hanoi en novembre 1997.

Le Dr Monique Lemattre, présidente de séance, a remercié le Dr Tran Duy Quy et ses collaborateurs pour l'organisation de la manifestation, ainsi que l'AUFELF-UREF qui soutient le projet franco-vietnamien sur l'apport des biotechnologies à l'amélioration sanitaire et à la diversification des productions horticoles ; elle a rappelé que la mise en commun du savoir-faire permet de progresser dans la compréhension des problèmes posés et dans le choix des solutions à adopter.

Le Dr Nguyen Ngoc Kinh, directeur du département des Sciences et technologies de la qualité évoque les relations de coopération développées avec la France, en particulier celles du ministère de l'Agriculture sur le « Programme du fleuve Rouge » qui ont mobilisé plusieurs chercheurs. Il se félicite de la tenue de ce séminaire pour l'avenir de la production agricole et de l'attention donnée aux problèmes dus aux virus et aux bactéries. Après les exposés des différents intervenants, le Dr Nguyen Ngoc Kinh s'est félicité de la réussite de ce premier séminaire francophone qui a associé diffé-

Encadré 2

Plantes ornementales : de la lutte contre les maladies à l'ouverture sur le marché international (Hanoi, le 6 mars 1996)

Un séminaire scientifique vient d'être organisé à Hanoi par le laboratoire de Pathologie végétale de l'Institut de génétique agronomique, l'un des laboratoires soutenus par le Fonds francophone pour la recherche mis en place par l'AUFELF-UREF dans un cadre multilatéral. Ce séminaire franco-vietnamien a regroupé pendant une journée cinquante chercheurs autour de plusieurs personnalités scientifiques vietnamiennes et françaises : le Dr Tran Duy Quy, directeur de l'Institut, le Dr Le Thi Anh Hong, responsable du laboratoire de Pathologie végétale et, du côté français, le professeur Pierre Lemattre de l'École nationale supérieure d'horticulture, située à Versailles dans les anciens potagers du Roi, et Mmes Albouy et Lemattre, également spécialistes d'horticulture.

Ce séminaire a permis de faire le point, d'une part, sur le diagnostic des viroses et des bactérioses des plantes ornementales (notamment des orchidées) et, d'autre part, sur les perspectives d'accéder pour un certain nombre de produits de l'horticulture ornementale vietnamienne au marché international asiatique et européen. Ce sujet est particulièrement important car plusieurs zones maraîchères autour de Hanoi et de Haiphong se sont reconverties dans la production de fleurs de qualité, parfois en se consacrant exclusivement à ce nouveau secteur en plein développement.

La question du choix des variétés se pose, ainsi que l'étude des conditions d'adaptation de certaines variétés européennes intéressant tant le marché local que l'exportation. Le thème de la diversification des productions horticoles au Vietnam et la lutte contre les maladies mettant en danger l'expansion de l'horticulture seront au centre des discussions scientifiques de l'été 1997.

Des scientifiques de l'ensemble de la communauté francophone pourraient être invités à cette occasion, précédant la tenue du sommet des pays ayant la francophonie en partage, qui se tiendra à Hanoi à la fin de l'année 1997.

(Source : Ambassade de France au Vietnam)

Ornamental plants : from disease control to access at the international market (Hanoi, March 6, 1996)

rents instituts de France et du Vietnam et a espéré que d'autres réunions seraient tenues au niveau national ou international.

Par ailleurs, en 1996, une vingtaine de délégations du Vietnam et de l'étranger ont visité le laboratoire, lequel a accueilli pendant six mois un stagiaire travaillant sur le diagnostic sérologique du virus de la tristezza. En 1997, une dizaine de délégations seront reçues, ainsi qu'un autre stagiaire. Mentionnons également des activités de conseil auprès des producteurs en matière d'identification des maladies et de gestion des expérimentations.

Dans le cadre des séjours à l'étranger, le Dr Le Thi Anh Hong, directrice du laboratoire, a fait une communication au symposium « Seed Health Testing Towards The 21st Century » à Cambridge (Grande-Bretagne), en août 1996, et a assisté au

Congrès de la Société française de phytopathologie à Nice (France) en novembre 1996. Elle a séjourné à la Florida State University (*Citrus* et orchidées) et à la Louisiana State University (diagnostic des ARN double-brins), où elle a présenté un séminaire sur la propagation *in vitro* du papayer. Elle a également participé au colloque organisé à Orsay (France) en juillet 1997 dans le cadre des activités du Réseau biotechnologies végétales de l'AUFELF-UREF, à l'occasion du 10^e anniversaire de ce réseau thématique de recherches, lieu privilégié de communication, de discussion et d'échange entre les scientifiques francophones œuvrant dans les différentes disciplines ressortissant de ce secteur en pleine expansion de la biologie appliquée. Elle y a présenté une affiche sur la propagation *in vitro* du bananier.

Perspectives

Le Laboratoire de pathologie végétale de l'Institut de génétique agronomique de Hanoi en est à sa deuxième année de fonctionnement effectif en tant que laboratoire associé francophone dans le cadre du Fonds francophone de la recherche de l'AUFELF-

UREF. Dans un premier temps, on a développé les échanges internationaux, nécessaire passage vers l'établissement de programmes de coopération interactifs et on a privilégié les activités de formation du personnel. Au cours de la deuxième phase des activités, on prendra particulièrement en compte le rayonnement du laboratoire et sa fonction de pôle scientifique francophone, tant au

Vietnam même que dans l'ensemble de la francophonie, ce qui devrait se traduire par la présentation d'articles en français dans des revues d'audience internationale. ■

Références

1. Dam Thang Giang, Le Thi Anh Hong. Multiplication in vitro du papayer au Vietnam. *Cahiers Agricultures* 1997 ; 6.

Résumé

Biotechnologies végétales au Vietnam : le Laboratoire associé francophone de Conhue (Hanoi)

Le Laboratoire de pathologie végétale de l'Institut de génétique agricole de Conhue (Hanoi, Vietnam) est chargé d'étudier l'identification et la lutte contre les agents phytopathogènes et, dans ce cadre, a développé de nombreuses techniques ressortissant aux biotechnologies au sens large. Depuis 1995, le laboratoire est devenu Laboratoire associé francophone financé par l'AUFELF-UREF. Les activités de recherche portent surtout sur les virus de légumineuses (en coopération avec des laboratoires de Versailles et d'Angers, France). La comparaison de différentes techniques de diagnostic viral a mis en évidence l'intérêt de la technique ELISA (technique d'immunosorption d'enzyme liée), comparativement à la PCR ou à l'immunocapture par PCR.

Les maladies des *Citrus* constituent un volet important du programme du laboratoire. La technique de microgreffe de méristèmes *in vitro* a permis la régénération de plantules saines de *Citrus* libérées de l'agent de la maladie du « verdissement » (*greening*). Les cultures commerciales d'orchidées se développent à grande échelle au Vietnam. Les virus provoquent de grands dommages sur ces cultures et on utilise pour le diagnostic la méthode ELISA, couplée au système biotine-avidine. Différentes autres cultures (banane, papaye, poivron, tomate) font également l'objet de mesures de lutte contre les virus et de production de matériel sain. De nouvelles recherches établissent les coûts comparés de différentes techniques dans le contexte de la production et de la diffusion de matériel végétal sain au Vietnam. La formation du personnel, les échanges, les communications entre scientifiques et la vulgarisation ont figuré en bonne place dans la phase initiale de développement du laboratoire. Depuis sa constitution comme Laboratoire associé francophone, la première année d'activité (1996) a porté surtout sur l'aménagement des techniques aux conditions locales. Pendant la deuxième année (1997) on a développé en outre les contacts internationaux en vue de la coopération scientifique et on a organisé le laboratoire en Centre de conseil et de vulgarisation pour rencontrer les besoins économiques en matière de diagnostic. Ces activités seront poursuivies à l'avenir, tandis qu'on accroîtra le potentiel scientifique en matière de capacités techniques, d'infrastructures, d'originalité de recherche et d'appui aux besoins économiques du Vietnam.

Summary

Plant biotechnology in Vietnam: the francophone associated Laboratory of Conhue (Hanoi)

The Plant Pathology Laboratory of the Institute for Agricultural Genetics of Conhue (Hanoi, Vietnam) is in charge of studying plant disease identification and control and in this respect, developed many techniques relevant of biotechnology at large. Since 1995, it was funded as a Francophone Associated Laboratory of AUFELF-UREF.

Research activities deal mainly with legume viruses (in cooperation with laboratories in Versailles and Angers, France). Comparison of different techniques of virus diagnosis indicated that ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) is best suited in this respect, as compared to PCR or PCR-immunocapture. Citrus diseases are also important in the laboratory programme, mainly "tristeza" and "greening". The micro graft technique of meristems in vitro culture suits the need for regeneration of healthy Citrus plantlets freed from the greening disease. Commercial culture of orchids is developing on a large scale in Vietnam. Viruses are very damaging for these cultures and are diagnosed using the ELISA technique with avidin-biotin coupling. Various cultures such as banana, papaw, pepper and tomato, are also considered in terms of disease control and production of virus-free material. Further research will comparatively assess the costs of the different techniques for large scale production and diffusion of disease-free materials under Vietnam conditions.

Training of staff, exchange, communication among scientists and extension were an important part of the Laboratory activities since its onset. During the first year (1996) as a Francophone Associated Laboratory, testing and comparing new techniques were conducted under local conditions. During the second, current year (1997) these activities were continued, while developing international contacts for cooperative research and organising the Laboratory as an extension center, to meet the economical needs in terms of plant disease diagnosis and control. The two major and complementary lines of activity are due to be further developed in the future, together with the improvement of scientific capabilities of the laboratory, in terms of technical skill, modern instruments, original lines of research, and support for economical needs of Vietnam.

Tóm tắt

Một phòng thí nghiệm trong hiệp hội các nước nói tiếng Pháp ở Việt Nam. Những hoạt động và những triển vọng.

Trong số các phòng đó có phòng thí nghiệm Bệnh học phân tử thực vật của Viện Di truyền Nông nghiệp ở Hà Nội phụ trách việc nghiên cứu, nhận dạng và kiểm tra bệnh thực vật.

Những hoạt động nghiên cứu liên quan chủ yếu tới virus trên cây đậu (hợp tác với các phòng thí nghiệm ở Versailles và Angers, Pháp). So sánh các kỹ thuật khác nhau chỉ ra rằng ELISA (thử miễn dịch hấp thụ liên kết ENZYME) là phù hợp nhất trong khía cạnh so với PCR hoặc với phương pháp kết dính miễn dịch. Bệnh trên cây họ cam quýt cũng quan trọng trong chương trình phòng thí nghiệm, chủ yếu là Tristeza và Greening. Kỹ thuật vi ghép đỉnh sinh trưởng trong nuôi cấy *in vitro* tiếp theo cần thiết cho tái sinh cây cam chanh sạch bệnh Greening.

Thương mại hóa cây phong lan đang được phát triển rộng ở Việt Nam. Virus là một bệnh rất nguy hiểm cho loại cây trồng này và đang được xử lý kỹ thuật ELISA để chuẩn đoán với hệ thống Avidine-Biotine. Các loại cây trồng khác nhau như chuối, đu đủ, ớt và cà chua cũng đang được tính vào chương trình kiểm tra bệnh và sản xuất vật liệu sạch bệnh.

Phòng thí nghiệm bệnh học thực vật ở Cổ Nhuế - Hà Nội đang bước vào năm thứ 2 cùng với sự khuyến khích của Quỹ tài trợ các nước nói tiếng Pháp cũng như là "Hiệp Hội các phòng thí nghiệm nói tiếng Pháp". Năm thứ nhất 1996 tập trung trao đổi quốc tế và đào tạo nhân sự, trong khi thử và so sánh các kỹ thuật mới trong các điều kiện sở tại. Trong năm thứ 2, 1997, những hoạt động đã và đang được tiếp tục, đồng thời phát triển các quan hệ quốc tế để hợp tác nghiên cứu và tổ chức phòng thí nghiệm như 1 trung tâm triển khai, nhằm đáp ứng những nhu cầu kinh tế bằng những việc chuẩn đoán và kiểm tra bệnh thực vật. Hai vấn đề lớn và những con đường bổ sung của các hoạt động được đưa ra xa hơn nữa trong phát triển tương lai, cùng với sự cải tiến khả năng nghiên cứu khoa học của phòng thí nghiệm, bằng cách tăng cường các tay nghề kỹ thuật đưa vào các công cụ hiện đại, các hướng nghiên cứu chính thống trong nghiên cứu và hỗ trợ cho các nhu cầu kinh tế.